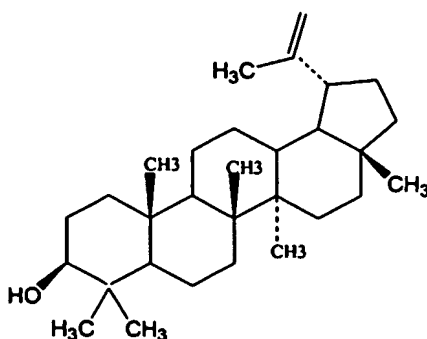


Utilisation d'une composition cosmétique ou pharmaceutique comprenant un extrait riche en lupéol, à titre de principe actif, pour stimuler la synthèse des protéines de stress

- 5 La présente invention concerne l'utilisation d'un extrait riche en lupéol pour la fabrication d'une composition pharmaceutique ou cosmétique destinée à traiter et/ou prévenir une dégénérescence des tissus conjonctifs.

10 Le lupin est une plante assez répandue, que l'on trouve en Europe, en Asie, ainsi qu'en Amérique du Nord et du Sud. Ce végétal est un proche parent du pois, de la fève, du soja et du haricot. Plusieurs espèces de lupin peuvent être citées comme étant les plus connues : *lupinus albus* (lupin blanc), *lupinus angustifolius* (lupin bleu), *lupinus luteus* (lupin jaune), *lupinus mutabilis* (lupin changeant), *lupinus graecus*, *lupinus micranthus* Guss, *lupinus hispanicus*, *lupinus pilosus*, *lupinus cosentinii*, *lupinus atlanticus*,
15 *lupinus princei* et *lupinus somaliensis*. Une des espèces les plus courantes sur le territoire européen est le lupin blanc doux (*lupinus albus*), notamment la variété Arès présentant le gène pauper.

Le lupéol (1) appartient à la famille des triterpènes et plus particulièrement à celle des alcools triterpéniques.



20

(1)

Le lupéol présente un intérêt certain de par ses nombreuses activités biologiques. Il est notamment connu pour ses propriétés anti-inflammatoires (Singh S. et coll., *Filoterapia*, 1997, 68, No. 1, 9) et analgésiques (De Miranda A. L. et coll., *Planta*
25 *Med*, 2000, 66(3), 284), son action néphroprotectrice vis-à-vis des métaux lourds

(Nagaraj M. et coll., *J. Appl. Toxicol*, 2000, 20(5), 413), son action anti-histaminique (De Medrano Villar M. J. et coll., *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.*, 1997, 19, No. 8, 515), ses activités anti-mitotiques (Zachariah R. et coll., *Indian J. Pharm. Sci.*, 1994, 56, No. 4, 129) et anti-virales (Kahlos K., *Filoterapia*, 1996, 67, No. 4, 344).

- 5 Le lupéol est aussi connu pour ses propriétés anti-oxydantes. En effet, le lupéol active la régénération des enzymes anti-oxydantes cutanées, qui ont été endommagées par les toxines environnementales. De plus, il est un agent chimiopréventif de la peau et il permet la suppression de la toxicité cutanée induite par le peroxyde de benzoyle (Saleem M, et al., 2001, Lupeol, a triterpene, inhibits early responses of tumor
10 prevention induced by benzoyl peroxide in murine skin, *Pharmacol Res*, 43(2) :127-134).

Le lupéol permet le contrôle de la prolifération des kératinocytes, et il peut donc être utilisé dans des compositions anti-inflammatoires.

- Il a également été trouvé que le lupéol permet de réduire efficacement les risques de
15 formation de calculs et il est donc utilisé dans le traitement des maladies urinaires (Malini MM, et al. (2000) Protective effect of triterpenes on calcium oxalate crystal induced peroxidative changes in experimental urolithiasis. *Pharmacol Res*. 41(4) :413-418).

- Le lupéol peut également être utilisé en tant qu'intermédiaire de synthèse, notamment
20 pour la préparation de phyto-hormones et d'analogues de stéroïdes.

Le lupéol est présent dans de nombreux végétaux tels que l'Aloe vera ou l'écorce de *Crataeva nurvala*. Il a été isolé à plusieurs reprises à partir de plantes diverses comme le Bresk.

- Il a également été extrait des coques de lupin. La demande de brevet FR 2 822 821
25 décrit un extrait de coques de graines de lupin contenant du lupéol, avantageusement, l'extrait présente un taux de lupéol supérieur à 30% en poids, de préférence supérieur à 50% en poids. De manière encore plus avantageuse, l'extrait de coques de graines de lupin présente un taux de lupéol compris entre 70 et 100%.

- La demande de brevet FR 2 822 821 décrit également un procédé d'obtention d'un
30 extrait de coques de graines de lupin, qui comprend au moins la succession d'étapes suivantes :

- broyage des coques de lupin,

- extraction des lipides totaux contenus dans les coques de lupin broyées à l'aide d'un solvant organique choisi dans le groupe constitué par les alcanes aliphatiques, les alcanes aromatiques, les alcools aliphatiques et leurs dérivés halogénés, et
- 5 - purification des lipides obtenus pour obtenir un extrait riche en lupéol.

Les protéines du choc thermique (famille des HSP, Heat stress ou shock protein), ci après dénommées protéines de stress et abrégées HSP, sont présentes dans tous les organismes des bactéries jusqu'à l'homme. Il existe 5 groupes majeurs de HSP

10 caractérisés par leur poids moléculaire :

- 20-30 kDa ;
- 50-60 kDa ;
- 70 kDa ;
- 90 kDa ; et
- 15 ▪ 100-110 kDa.

L'ubiquitine, ainsi que l'hème oxygénase appartiennent également à la grande famille des HSPs.

Les HSP sont exprimées de manière constitutionnelle dans des conditions physiologiques et possèdent des activités basiques et indispensables à la synthèse

20 protéique, tout en protégeant les cellules de nombreuses agressions telle qu'une élévation de température, le rayonnement ultra-violet, l'ischémie-reperfusion et l'apoptose.

La fonction chaperon des HSP est l'une des grandes fonctions protéiques à avoir été découverte. Initialement mise en évidence dans le cadre d'un stress thermique, la

25 présence de ces protéines à un niveau déjà important dans toutes cellules en l'absence de stress a suggéré qu'elles participaient au repliement normal des protéines. Ces chaperones sont capables d'inhiber l'aggrégation de protéines partiellement dénaturées et de les replier en utilisant de l'ATP. Elles empêchent les associations inappropriées de protéines, et sont impliquées dans le transport intracellulaire et la sécrétion des

30 protéines.

L'HSP47 est une protéine localisée dans le réticulum endoplasmique des cellules (compartiment de la synthèse protéique) et elle se fixe spécifiquement sur différents

types de collagène et de pro-collagène, notamment de type I, II, III, IV et V. L'HSP47 est impliquée dans le « système contrôle qualité » de la cellule, empêchant que cette dernière ne sécrète du pro-collagène avec une structure inadéquate. Une corrélation entre sur-expression du collagène et de l'HSP47 a été démontrée chez l'homme.

- 5 Les collagènes représentent environ 30% des protéines totales et sont les constituants majeurs de la matrice extracellulaire des tissus conjonctifs tels que le derme (70% des protéines de la matrice extracellulaire), le cartilage ou le tissu conjonctif gingival (60 à 65% des protéines). A ce jour, 19 types de collagène différents ont été décrits. Par définition, ils possèdent des domaines en triple hélice en proportions variables et
10 forment des structures organisées au sein de la matrice extracellulaire comme des fibrilles, des filaments ou des réseaux. Les collagènes sont synthétisés à partir d'un pro-collagène par les cellules conjonctives telles que les fibroblastes dermiques et gingivaux, ainsi que par les chondrocytes au niveau du cartilage articulaire. Les fibres de collagène synthétisées se renforcent et s'assemblent en faisceaux qui constituent la
15 fibre collagène définitive et insoluble, qui pourra répondre dans l'avenir aux contraintes de traction.

Les tissus conjonctifs jouent un rôle majeur en tant que support et soutien pour les autres éléments constitutifs de l'organe et en tant qu'absorbeur de choc. Par exemple le tissu conjonctif gingival assure le soutien des dents. Au niveau cutané, le derme est
20 notamment responsable de la fermeté de la peau.

Une dégénérescence des tissus conjonctifs, liée à une altération du réseau collagénique, telle qu'une inhibition de la synthèse du collagène et/ou du pro-collagène, une synthèse imparfaite du collagène et/ou du pro-collagène, une dégradation des fibres de collagène, une diminution du nombre des fibroblastes et de leur métabolisme, peuvent
25 donc avoir des conséquences importantes.

La Demanderesse a découvert qu'un extrait riche en lupéol peut également être utilisé pour stimuler la synthèse des protéines de stress et plus particulièrement pour stimuler
30 la synthèse de l'HSP47 (Heat Shock Protein 47) afin de traiter et/ou de prévenir la dégénérescence des tissus conjonctifs relative à des processus internes et/ou à des agressions extérieures.

La Demanderesse a ainsi découvert qu'un extrait riche en lupéol peut permettre de contrôler la structure normale du collagène, via la stimulation de la synthèse de l'HSP47, lorsque la peau et/ou les articulations et/ou les tissus conjonctifs gingivaux sont soumis à un environnement stressant. Cet environnement stressant peut être une

5 contrainte physique, induite par exemple par une prise de poids pouvant notamment entraîner une variation du phénotype et du métabolisme des fibroblastes, une expositions aux radiations, notamment aux radiations UV, une sénescence ou une inflammation.

Par le terme d'extrait "riche en lupéol", on entend au sens de la présente invention, un

10 extrait présentant un taux de lupéol supérieur à 30% en poids, avantageusement supérieur à 50% en poids, et de manière encore plus avantageuse compris entre 70 et 100% en poids.

La présente invention a pour principal objet l'utilisation d'un extrait riche en lupéol

15 pour la fabrication d'une composition cosmétique ou pharmaceutique destinée à traiter et/ou prévenir la dégénérescence des tissus conjonctifs au niveau du derme et/ou du cartilage, et/ou du tissu conjonctif gingival, liée à une anomalie de la production du collagène.

Un extrait riche en lupéol selon la présente invention peut ainsi être utilisé dans une

20 composition cosmétique destinée à traiter et/ou prévenir la dégénérescence des tissus conjonctifs au niveau du derme et/ou du cartilage, et/ou du tissu conjonctif gingival.

Un extrait riche en lupéol peut également être utilisé pour la fabrication d'un médicament destiné à traiter et/ou prévenir la dégénérescence des tissus conjonctifs au niveau du derme et/ou du cartilage, et/ou du tissu conjonctif gingival.

25 Dans le cadre de la présente invention, on parlera indifféremment de composition pharmaceutique ou de médicament.

Au sens de la présente invention, on entend par « anomalie de la production du collagène », une synthèse insuffisante du collagène et/ou du pro-collagène par les fibroblastes ou les chondrocytes, une synthèse imparfaite des collagènes et/ou des pro-

30 collagènes, une dégradation des fibres de collagènes, une diminution du nombre de fibroblastes ou de chondrocytes et de leur métabolisme.

Au sens de la présente invention, on entend par « synthèse imparfaite » du collagène, toute synthèse d'un collagène ou pro-collagène présentant des anomalies de structure, ne pouvant plus notamment remplir sa fonction de soutien mécanique de la peau et/ou des articulations et/ou des tissus conjonctifs gingivaux.

- 5 L'anomalie de la production du collagène peut être induite par un facteur stress interne ou externe. Par exemple, sous une contrainte physique, telle qu'une prise de poids, une surcharge pondérale, une distension des tissus notamment dans le cadre d'une grossesse, à la suite d'une irradiation, notamment aux rayons ultraviolets, suite à une inflammation ou dans un état de sénescence, les fibroblastes ou les chondrocytes,
10 soumis à ces contraintes externes, peuvent synthétiser du collagène de structure anormale.

L'anomalie de la production du collagène peut notamment être une inhibition de la synthèse ou une synthèse imparfaite des pro-collagènes et collagènes, en particulier des pro-collagènes et/ou collagènes du type I, II, III, IV ou V.

- 15 L'extrait riche en lupéol selon la présente invention joue le rôle d'un promoteur de la synthèse des protéines de stress, notamment de la synthèse de l'HSP47. Cette activation des protéines de stress, avantageusement de l'HSP47, permet de stimuler le métabolisme et la prolifération des fibroblastes et des chondrocytes et ainsi de lutter contre et/ou de prévenir la dégénérescence du réseau collagénique.

- 20 La composition cosmétique selon l'invention est destinée à stimuler la synthèse des protéines de stress HSP, en particulier la synthèse de l'HSP47, et ainsi l'activité des fibroblastes et des chondrocytes.

- La composition pharmaceutique ou le médicament selon l'invention est destiné à stimuler la synthèse des protéines de stress HSP, en particulier la synthèse de l'HSP47,
25 et ainsi l'activité des fibroblastes et des chondrocytes.

Selon une variante avantageuse de l'invention, la composition pharmaceutique ou le médicament est destiné à traiter et/ou prévenir les pathologies articulaires, notamment les pathologies articulaires non inflammatoires.

- 30 Les pathologies articulaires sont caractérisées par un déséquilibre entre la synthèse et la dégradation de la matrice extracellulaire qui entoure les chondrocytes. Le cartilage articulaire, qui est principalement constitué d'un réseau de fibres de collagène, d'un

gel de protéoglycanes hydrophiles et de chondrocytes, joue un double rôle mécanique essentiel pour la protection de l'os sous-chondral. D'une part il diminue les forces de frottement lors du déplacement des segments osseux et, d'autre part, il assure la transmission, la répartition et l'amortissement des contraintes subies par l'articulation.

- 5 A l'âge adulte, le renouvellement du réseau collagénique au sein du cartilage articulaire est très faible. Il est donc important de pouvoir stimuler la synthèse des collagènes et des pro-collagènes et/ou atténuer une altération du réseau collagénique, qui sont les constituants majeurs du cartilage. La composition pharmaceutique selon la présente invention permet la stimulation de la synthèse de l'HSP47 qui permet ainsi de
10 lutter contre et/ou de prévenir la dégénérescence du tissu conjonctif du cartilage articulaire.

Avantageusement, le médicament selon l'invention est destiné à prévenir et/ou traiter l'arthrose, qui peut être due à une lésion primitive du cartilage avec modification de la structure des tissus conjonctifs et une diminution des protéoglycannes.

- 15 Le médicament ou la composition pharmaceutique selon l'invention est également destiné à prévenir et/ou traiter les maladies parodontales. Particulièrement, la composition pharmaceutique selon l'invention est destinée à prévenir et/ou traiter la gingivite ou la parodontite.

- 20 Les maladies parodontales, dont la conséquence ultime est la perte de la dent, se traduisent notamment par une dégénérescence des tissus conjonctifs gingivaux. Le tissu conjonctif gingival est composé de 60 à 65 % de collagènes. La composition pharmaceutique selon la présente invention permet de lutter et/ou de prévenir la dégénérescence du tissu conjonctif gingival, via une stimulation de la synthèse de
25 l'HSP47 qui va permettre de promouvoir l'expression du collagène.

Selon une autre variante avantageuse de l'invention, le médicament selon l'invention est destiné à la prévention et/ou au traitement des vergetures.

- Les vergetures peuvent être considérées comme une atteinte de la cellule fibroblastique
30 caractérisée notamment par une inhibition de l'expression des gènes codants pour la fibronectine, les collagènes de type I et II et une transformation des fibroblastes en myofibroblastes sous l'effet des distensions mécaniques. Cette dégénérescence du tissu

collagénique conduit à la formation d'une cicatrice dermique atrophique. Un des principaux facteurs déclenchant est le stress mécanique.

La composition pharmaceutique selon la présente invention est avantageusement à application topique. On entend par application topique aussi bien une application de la
5 composition au niveau de la peau qu'au niveau buccal, notamment au niveau des gencives.

La composition pharmaceutique selon l'invention se caractérise en ce que la concentration en extrait riche en lupéol est comprise entre 0,001% et 10 % en poids, avantageusement entre 0,1 et 10 % en poids, en particulier entre 1 et 5 % en poids, par
10 rapport au poids total de la composition pharmaceutique.

La composition cosmétique selon la présente invention permet de favoriser la résistance au stress et aux contraintes mécaniques de la peau et/ou des articulations et/ou des tissus conjonctifs gingivaux.

15 Ladite composition cosmétique permet aux tissus conjonctifs de résister au stress sous une contrainte physique, telle qu'une prise de poids, une surcharge pondérale, une distension des tissus notamment dans le cadre d'une grossesse, une irradiation, notamment aux ultra-violets.

Selon une variante avantageuse de l'invention, la composition cosmétique est utile en
20 tant qu'agent cicatrisant de la peau et/ou des articulations et/ou des tissus conjonctifs gingivaux et/ou des muqueuses. En effet, la composition cosmétique selon l'invention permet de stimuler l'activité des fibroblastes et des chondrocytes, qui synthétisent le collagène nécessaire pour combler la perte de substance par un nouveau tissu.

La composition cosmétique est avantageusement utilisée pour notamment prévenir
25 et/ou traiter les vergetures ou leur apparition.

Selon une autre variante avantageuse de l'invention, la composition cosmétique est utile en tant qu'agent restructurant de la peau et/ou des muqueuses.

La composition cosmétique est également avantageusement utile en tant qu'agent anti-relâchement de la peau et/ou des muqueuses. Le vieillissement cutané est notamment
30 caractérisé par une diminution de nombre de fibroblastes ainsi que par une diminution de leur activité. La composition cosmétique selon l'invention permet de stimuler le métabolisme et la prolifération des fibroblastes. Elle est donc avantageusement utilisée

pour prévenir et/ou retarder le vieillissement cutané chronologique, extrinsèque, notamment dû au soleil, au tabac, à la pollution, au stress, et ménopausique.

La composition cosmétique selon l'invention agit au niveau du derme de la peau.

5 Selon une variante avantageuse de l'invention, la composition cosmétique est destinée aux femmes enceintes.

La composition cosmétique peut aussi être utilisée en tant que bain de bouche ou pâte dentifrice.

10 Au sens de la présente invention, l'expression « pâte dentifrice » inclut toutes les formulations classiques de dentifrice, que ce soit notamment sous la forme d'un gel de dentifrice, d'une pâte de dentifrice ou d'une combinaison pâte et gel de dentifrice.

La composition cosmétique est avantageusement à application topique. On entend par application topique aussi bien une application de la composition au niveau de la peau qu'au niveau buccal, notamment au niveau des gencives.

15 La composition cosmétique selon l'invention se caractérise en ce que la concentration en extrait riche en lupéol est comprise entre 0,001 et 10% en poids, avantageusement entre 0,1 et 10 % en poids, en particulier entre 1 et 5 % en poids, par rapport au poids total de la composition cosmétique.

20 L'extrait riche en lupéol présente un taux de lupéol supérieur à 30% en poids, avantageusement supérieur à 50% en poids, et de manière encore plus avantageuse compris entre 70 et 100% en poids.

Ainsi, la composition cosmétique selon l'invention se caractérise en ce que la concentration en lupéol est comprise entre 0,0003 et 10% en poids, avantageusement entre 0,007 et 10% en poids, par rapport au poids total de la composition cosmétique.

25

La composition qui permet la mise en oeuvre de l'invention comprend un support cosmétiquement acceptable, c'est à dire un support compatible avec la peau et peut se présenter sous toutes les formes galéniques normalement utilisées pour une application topique, notamment sous forme d'une solution aqueuse, hydroalcoolique ou huileuse, 30 d'une émulsion huile-dans-eau ou eau-dans-huile ou multiple, d'un gel aqueux ou huileux, d'un produit anhydre liquide, pâteux ou solide, d'une dispersion d'huile dans une phase aqueuse à l'aide de sphérules, ces sphérules pouvant être des nanoparticules

polymériques telles que les nanosphères et les nanocapsules ou mieux des vésicules lipidiques de type ionique et ou non-ionique, d'un dispositif trans-dermique ou sous toute autre forme pour application topique.

Cette composition peut être plus ou moins fluide et avoir l'aspect d'une crème blanche
5 ou colorée, d'une pommade, d'un lait, d'une lotion, d'un sérum, d'une pâte, d'une mousse ou d'un gel.

Elle peut éventuellement être appliquée sur la peau sous forme d'aérosol. Elle peut également se présenter sous forme solide, et par exemple sous forme de stick. Elle peut aussi être appliquée au moyen d'un patch.

10 Avantageusement, le milieu cosmétiquement acceptable est une solution huileuse, une émulsion eau-dans-huile, une émulsion huile-dans eau, une microémulsion, un gel huileux, un gel anhydre, une dispersion de vésicules, de microcapsules ou de microparticules, un dispositif trans-dermique.

La composition selon l'invention peut contenir également les adjuvants habituels dans
15 le domaine cosmétique, tels que les gélifiants hydrophiles ou lipophiles, les actifs hydrophiles ou lipophiles, les épaississants, les conservateurs, les antioxydants, les solvants, les parfums, les agents chélateurs, les absorbeurs d'odeur, des filtres chimiques ou minéraux, des pigments minéraux, les tensioactifs, les polymères, les huiles de silicone et les matières colorantes. Les quantités de ces différents adjuvants
20 sont celles classiquement utilisées dans les domaines considérés, et par exemple de 0,01 à 20% du poids total de la composition. Ces adjuvants, selon leur nature, peuvent être introduits dans la phase grasse, dans la phase aqueuse, dans les vésicules lipidiques et ou dans les nanoparticules.

Lorsque la composition de l'invention est une émulsion, la proportion de la phase
25 grasse peut aller de 5 à 80% en poids, et de préférence de 5 à 50% du poids total de la composition. Les huiles, les émulsionnants et les coémulsionnants utilisés dans la composition sous forme d'émulsion sont choisis parmi ceux classiquement utilisés dans le domaine considéré. L'émulsionnant et le coémulsionnant sont présents, dans la composition, en une proportion allant de 0,3 à 30% en poids, et de préférence de 0,5 à
30 20% du poids total de la composition.

Comme huiles utilisables dans les compositions permettant de mettre en œuvre l'invention, on peut citer les huiles minérales, les huiles d'origine végétale (huile

d'abricot, huile de tournesol, de prune), les huiles d'origine animale, les huiles de synthèse, les huiles siliconées et les huiles fluorées (perfluoropolyéthers). On peut aussi utiliser comme matières grasses des alcools gras (alcool cétylique), des acides gras, des cires (cire d'abeilles).

- 5 Comme émulsionnants et coémulsionnants utilisables dans l'invention, on peut citer par exemple les esters d'acide gras et de polyéthylène glycol tels que le stéarate de PEG-40, le stéarate de PEG-100, les esters d'acide gras et de polyol tels que le stearate de glycéryle et le tristéarate de sorbitane.

- 10 Comme gélifiants hydrophiles, on peut citer en particulier les polymères carboxyvinyliques (carbomer), les copolymères acryliques tels que les copolymères d'acrylates/alkylacrylates, les polyacrylamides, les polysaccharides, les gommes naturelles et les argiles, et, comme gélifiants lipophiles, on peut citer les argiles modifiées comme les bentones, les sels métalliques d'acides gras, la silice hydrophobe et les polyethylenes.

- 15 Les modes d'administration, les posologies et les formes galéniques optimales des composés et compositions selon l'invention peuvent être déterminés selon les critères généralement pris en compte dans l'établissement d'un traitement cosmétique, de préférence dermatologique, adapté à un patient comme par exemple le poids corporel du patient, l'excès de graisse constaté, l'aspect du tissu cellulitique, la tolérance au
20 traitement, le type de peau.

- La composition selon l'invention peut contenir d'autres actifs, tels que les peptides du soja, les tripeptides constitués des acides aminés Glycine, Histidine et Lysine, les mélanges de ces peptides et tripeptides, et/ou au moins un alpha-hydroxy acide du type
25 acide lactique, notamment pour traiter et/ou prévenir les vergetures, ou encore lorsque la composition est utilisée comme agent anti-relâchement de la peau et/ou des muqueuses, ou pour résister au stress sous une contrainte physique telle qu'une prise de poids ou une distension des tissus conjonctifs en particulier dans le cadre d'une grossesse.

- 30 Dans un mode de réalisation particulier selon l'invention, la composition cosmétique ou pharmaceutique contient entre 0,1 et 10 % en poids d'un extrait riche en lupéol, avantageusement entre 0,1 et 5 % en poids, en particulier entre 1 et 5 % en poids, par

rapport au poids total de la composition, ainsi que des peptides du soja du type protéines hydrolysées du soja, ou des tripeptides constitués des acides aminés Glycine, Histidine et Lysine. Les peptides du soja ou les tripeptides sont présents dans la composition à une teneur avantageusement comprise entre 0,1 et 10 % en poids, encore
5 plus avantageusement entre 1 et 5 % en poids, encore plus avantageusement entre 2 et 4 % en poids, par rapport au poids total de la composition. Avantageusement, la composition contient en outre un alpha-hydroxy acide, tel que l'acide lactique. L'alpha-hydroxy acide est présent dans la composition à une teneur avantageusement comprise entre 0,1 et 20 % en poids, encore plus avantageusement entre 10 et 15 % en poids, par
10 rapport au poids total de la composition.

Les peptides du soja qui sont avantageusement ajoutés dans la composition dans le cadre de la présente invention peuvent être tout peptide obtenu par hydrolyse de protéines extraites du soja, selon des conditions opératoires connues de l'homme du métier, en d'autres termes tout hydrolysate de protéine du soja. De préférence, ces
15 peptides du soja sont des peptides ayant subi en outre une fermentation par une souche de micro-organisme. D'une manière générale, on obtient un peptide du soja fermenté en plaçant un peptide du soja dans un fermenteur en présence de glucose, de sels minéraux et d'une souche de micro-organisme donnée, dans des conditions contrôlées de température, de pH, d'oxygénation et de durée. Après la fermentation, on obtient le
20 peptide du soja fermenté par des opérations de séparation et de filtration classiques. Cette technique est notamment mise en œuvre par la société COLETICA qui commercialise ainsi divers hydrolysats de protéines végétales fermentés. De préférence, les peptides du soja, fermentés ou non, dans la composition utilisée selon la présente invention, ont un poids moléculaire compris entre environ 200 et environ
25 20000 Daltons, tel que mesuré par exemple par électrophorèse.

Un peptide du soja particulièrement préféré pour la composition utilisée selon l'invention est le peptide fermenté dénommé « Phytokine[®] », tel que commercialisé par la société COLETICA.

Ce peptide du soja fermenté spécifique, de poids moléculaire moyen d'environ 800
30 Daltons, est obtenu par fermentation d'un peptide du soja par la souche de micro-organisme *Lactobaccillus* et son aminogramme est le suivant :

		Nombre de résidus pour 100
	Hyp	0,39
	Asp	12,64
	Thr	2,93
5	Ser	4,29
	Glu	20,08
	Pro	7,31
	Gly	7,95
	Ala	7,76
10	Cys	ND*
	Val	5,59
	Met	0,96
	Ile	4,46
	Leu	7,42
15	Tyr	1,38
	Phe	3,39
	His	2,12
	Hyl	0,09
	Lys	5,73
20	Trp	ND*
	Arg	5,53
	β Ala	ND

(*ND : non déterminé)

25

Par « tripeptides constitués des acides aminés Glycine, Histidine et Lysine », on entend en particulier les tripeptides de séquence Gly-His-Lys, dont les acides aminés peuvent être sous la forme D, L ou DL, éventuellement conjugués avec un acide carboxylique tel que l'acide acétique, sous forme d'un complexe avec un métal tel que le zinc ou le

30

cuivre.
Parmi les tripeptides constitués des acides aminés Glycine, Histidine et Lysine, on préfère utiliser le tripeptide « KOLLAREN-CPP », dont la dénomination INCI est

« tripeptide-1 », tel que commercialisé par la société SEPORGA. Le « KOLLAREN-CPP » est un tripeptide de séquence Gly-His-Lys conjuguée avec l'acide acétique (acétate), sous forme d'un complexe avec du zinc.

- 5 L' α -hydroxy acide peut être tout α -hydroxy acide permettant d'obtenir un effet d'exfoliation et/ou d'hydratation de la peau, tels que, par exemple, l'acide citrique, l'acide pyruvique, l'acide glycolique ou encore l'acide lactique.

Un α -hydroxy acide particulièrement préféré pour la composition utilisée selon l'invention est l'acide lactique.

- 10 La composition utilisée selon l'invention comprend avantageusement en outre un composé destiné à régler le pH de la composition selon l'invention, à une valeur comprise entre environ 2 et environ 4, et de préférence une valeur d'environ 3,5, notamment pour neutraliser partiellement l' α -hydroxy acide. En particulier, on peut utiliser l'arginine ou une alcanolamine, telle que la triéthanolamine.

- 15 Dans un mode de réalisation particulier de la présente invention, le lupéol est obtenu à partir de coques de lupin avantageusement choisi dans le groupe constitué par le lupinus angustifolius, le lupinus albus, le lupinus luteus, le lupinus mutabilis, le lupinus graecus, le lupinus micranthus Guss, le lupinus hispanicus, le lupinus pilosus, le lupinus cosentinii, le lupinus atlanticus, le lupinus princei et le lupinus somaliensis.

- 20 Selon une variante avantageuse de l'invention, le lupéol est obtenu à partir de coques de lupinus albus, de préférence le lupinus albus de variété très portant le gène pauper.

Les exemples suivants illustrent la présente invention sans en limiter la portée.

EXEMPLE 1 : Composition d'un extrait riche en lupéol

Le tableau 1 suivant donne une composition particulière d'extrait riche en lupéol utilisé dans le cadre de la présente invention, ainsi que les spécifications que doit
 5 satisfaire un extrait de lupéol pour pouvoir être considéré comme étant un extrait riche en lupéol selon la présente invention.

Critère de composition	Résultats	Spécifications
Aspect	Solide beige à jaune clair	Solide beige à jaune clair
Teneur en lupéol (g/100g)	84,7	75,0-90,0
Teneur en stérols totaux (g/100g)	12,2	8,0-20,0
Composition relative en stérols (%)		
Béta-sitostérol	72,9	65,0-80,0
Campestérol	5,7	2,0-10,0
Stigmastérol	21,4	15,0-30,0
Perte à la dessiccation (g/100g) (1)	0,03	< 0,2

Tableau 1

10 (1) 1 heure à 105°C

EXEMPLE 2: Effets du lupéol sur l'expression du gène codant pour la protéine de stress HSP47.

15 Nous avons utilisé la méthode des « cDNA micro array » pour étudier les effets du produit sur l'expression des gènes codant pour des protéines structurales et régulatrices d'intérêt potentiel dans la physiologie cutanée. Une telle approche permet de « screener » en une seule étape les effets d'un produit ou d'un traitement sur
 20 l'expression des gènes dans un système biologique donné et d'avoir une signature des effets de ce traitement.

Conditions de culture et produits à l'essai

Le produit a été appliqué sur des fibroblastes cutanés humains cultivés dans du
 25 MEM/M199 pendant 18 heures. Le lupéol, en solution dans l'éthanol a été testé à la

concentration de 4,5 µg/ml, cette concentration correspond à une dose non cytotoxique.

Analyse de l'expression différentielle des gènes

- 5 La méthodologie utilisée est celle préconisée par Clontech (Palo Alto, USA), et comprend :
- une étape d'extraction et de purification des ARN totaux ;
 - une étape de purification des ARN messagers selon le protocole AtlasPure (Clontech) ;
 - 10 - le marquage des sondes ADN au P³² par reverse-transcription ;
 - la purification des sondes marquées par chromatographie sur colonne d'exclusion et vérification de la qualité et de l'équivalence par comptage en scintillation liquide ; et
 - hybridation des membranes (fournies par la société Custom ATLAS
 - 15 BIOAlternative) avec les sondes radio-marquées (68°C, une nuit).

Analyse des résultats

L'analyse des membranes a lieu par quantification directe de la radioactivité des spots à l'aide d'un PhosphoImager Cyclone (fourni par la société Packard Instrument).

- 20 Les résultats sont exprimés en unités relatives (UR, radioactivité moyenne des points du double spot correspondant à chaque gène, corrigé du bruit de fond et des différences d'intensité de marquage des sondes). Dans cette expérience, on a considéré de façon arbitraire qu'un gène était exprimé de façon significative lorsque son UR était supérieur ou égale à 2.
- 25 Les résultats ont été analysés au cas par cas, marqueur par marqueur. Arbitrairement, la limite de significativité a été fixée à environ +30% du contrôle pour un effet stimulant, c'est-à-dire pour un effet supérieur à 130%.

Résultats

- 30 Dans nos conditions expérimentales, une incubation de 18 heures en présence de 4,5 µg/ml de lupéol induit une régulation positive de l'expression du gène codant pour l'HSP47 (cf tableau 2).

	Cellules contrôles	Cellules + Lupéol 4,5 µg/ml, 18 heures
UR	28,2	36,4 (129% du contrôle)

Tableau 2

Conclusion

Les résultats de l'exemple 2 suggère que le lupéol pourrait de manière tout à fait
5 inattendue stimuler le gène codant pour la protéine de stress HSP47 dans des
fibroblastes cutanés humains en culture.

EXEMPLE 3: Effets du lupéol sur l'expression de la protéine de stress HSP47 10 dans un modèle de fibroblastes en culture

Afin de vérifier cette stimulation potentielle de l'HSP47 révélée par le screening, nous
avons étudié l'expression de la protéine HSP47 par la technique du western-blot.

Cette technique consiste en :

- 15 - une séparation des différentes protéines sur un gel de polyacrylamide en
conditions dénaturantes ;
- un transfert des protéines sur une membrane spécifique (membrane
PVDF, commercialisée par la société Biorad) ;
- un Marquage de la protéine d'intérêt par un anti-corps spécifique
20 (HSP47, Stressgen) ;
- une Révélation « colorimétrique » (Sigma Fast, BCPIP/NBT).

Différentes concentrations non cytotoxiques (5, 10 et 20 µg/ml), ainsi que plusieurs
temps d'incubation (24 et 48 heures) ont été testés.

Dans nos conditions expérimentales, nous avons enregistré une stimulation de la
25 production d'HSP47 pour une dose de 20 µg/ml et un temps d'incubation de 48h.

Les inventeurs ont montré, de manière tout à fait surprenante, en utilisant la technique
des micro arrays, ainsi que la technique du western-blot, que le lupéol stimulait la
production de l'HSP47 au niveau transcriptionnel (ARNm) et traductionnel, c'est-à-
dire au niveau des protéines.

EXEMPLE 4: Effets du lupéol sur des fibroblastes sains et des fibroblastes de vergetures

a) Cellules

- 5 Les fibroblastes sains (FS), les fibroblastes de vergeture rouge ou récente (FVr), et les fibroblastes de vergeture blanche plus ancienne (FVb) ont été utilisés dans cette étude.

b) Traitement

- 10 Les fibroblastes ont été cultivés en l'absence ou en présence de lupéol à la concentration de 7 µg/ml.

c) Effet du lupéol sur les capacités de rétraction des fibroblastes cultivés dans un lattice libre

15 *Principe*

Le mécanisme de la rétraction consiste en un rassemblement et réarrangement du collagène par les fibroblastes. Le collagène se polymérise en fibrilles sur lesquelles s'attachent les cellules. Ces dernières tirent sur les fibrilles grâce à leur mouvement migratoire, et réorganisent ainsi la matrice. Le lattice voit alors son diamètre diminuer.

20

Méthode

Le mélange de fabrication des lattices a été coulé dans des boîtes de Pétri de 50 mm de diamètre. En quelques minutes à 37°C, un gel s'est constitué. Les lattices ont été cultivés avec ou sans lupéol. Le taux de rétraction a été déterminé par la mesure des

25 diamètres des lattices.

Résultats

- 30 Dans les premiers jours, le diamètre du gel diminue fortement. Les FS rétractent plus vite la matrice que les FVr et les FVb. Aucune différence significative n'est visible entre les FVr et les FVb.

Les résultats sont présentés dans le tableau 3 suivant. Par exemple, à J1 : les lattices sont rétractés à 42% de leur diamètre initial pour FS contre 29% pour FV. L'ajout du

lupéol ralentit la rétraction. Par exemple, à J2 : le lupéol ralentit la rétraction de 20% pour les FS, 20% pour les FVr et 10% pour les FVb.

	FS	FS + Lupéol	FVr	FVr + lupéol	FVb	FVb + lupéol
Diamètre du gel	2,5	3	3	3,6	2,9	3,2
% de diminution de la rétraction	-	20	-	20	-	10

Tableau 3

5

Le lupéol diminue donc les capacités de rétraction des fibroblastes cultivés dans un lattice de collagène.

10 d) Effet du lupéol sur les forces isométriques développées par des fibroblastes cultivés dans un lattice libre

Principe

15 L'inhibition mécanique de la rétraction du gel de collagène dans lequel les fibroblastes sont inclus se traduit par la génération d'une force, appelée "force de rétraction" ou "force isométrique".

20 Les lattices se développent dans une boîte de culture qui est constituée de 8 cuves rectangulaires. Dans chacune plongent 2 lames flexibles en silicium, dont les parties inférieures sont constituées de grilles sur lesquelles s'accrochent le lattice lors de sa polymérisation. Le lattice se développe entre 2 lames pour aboutir à une forme rectangulaire légèrement rétrécie au centre. Cette forme en mécanique classique est désignée comme une forme en "diabolo". Ces lames sont équipées, au niveau de leur partie supérieure, d'un système de jauge de contrainte en or déposé à leur surface. Sous l'influence de la force de rétraction développée par les fibroblastes, les lames de

silicium se déforment. Cela se traduit par une variation de la valeur de résistance électrique de la jauge de contrainte, mesurée par l'intermédiaire d'un pont de Wheastone. Cette variation indique la force développée au sein du lattice, mesurée en temps réel par le biais d'une carte d'acquisition PC et d'un logiciel adapté.

5

Méthode

Le mélange de fabrication des lattices a été coulé dans les cuves rectangulaires de la boîte de culture. En quelques minutes à 37°C, un gel s'est constitué. Le milieu de culture DMEMc avec (7 µg/ml) ou sans lupéol a été ajouté. Les forces isométriques ont été mesurées durant 48 heures.

10

Résultats

La Figure 1 présente les résultats de mesure des forces isométriques en fonction du temps de culture. Les forces isométriques augmentent pendant les 8 premières heures de culture. Aucune différence significative n'est observée entre les FS et les FVb. Après 7 heures de culture, les FVr développent des forces isométriques significativement plus importantes que celles des FS et FVb (FVr : 5547 V ± 808 ; FS : 3583 V ± 1076 ; FVb : 3999 V ± 881). Pour chacune des 3 lignées cellulaires, l'ajout du lupéol diminue significativement les forces isométriques (à 7 heures de culture : FVr + LU 113 : 2488 V ± 1065 ; FS + LU 113 : 1325 V ± 372 ; FVb + LU 113 : 1365 V ± 228).

15

20

Ainsi, le lupéol diminue les forces isométriques des fibroblastes sains et de vergetures (rouges et blanches) cultivés en lattice tendu.

25

e) Effet du lupéol sur la morphologie des fibroblastes cultivés en lattice libre

Principe

Les fibroblastes sont des cellules de grande taille (100 µm) avec une morphologie fusiforme ou étoilée. Leur cytoplasme contient un ensemble de filaments protéiques (filaments intermédiaires, microtubules, filaments d'actine) qui en constituent l'ossature, ou cytosquelette, en étroite relation avec la membrane plasmique. 10% de

30

toutes les protéines cellulaires sont constituées d'actine, polymérisée sous forme de filaments et de faisceaux, qui sont souvent décrits sous le nom de *stress fibers*. Les filaments d'actine participent à l'activité contractile du fibroblaste en générant les forces isométriques. Il existe plusieurs types d'actine, dont l'actine fibrillaire polymérisée (F actine) et l' α actine de muscle lisse ou α smooth muscle actine (α SM actine).

Méthode

1. Mise en évidence de la F actine

10 Les lattices tendus sur anneau de nylon ont été cultivés pendant 5 jours dans des boîtes de Pétri (\varnothing 50 mm). Ils ont été fixés avec du paraformaldéhyde à 3% dans PBS pendant 20 min, puis rincés avec du PBS. Ils ont ensuite été incubés avec PBS + 0.1% Triton X100 pour perméabiliser la membrane. Les lattices ont été incubés avec la phalloïdine-FITC (2.5 μ g/ml) pendant 30 min à l'obscurité, et rincés avec du PBS. Ils
15 ont été montés entre lame et lamelle avec une goutte de Vectashield, puis ont été observés au microscope à fluorescence sous UV.

2. Mise en évidence de l' α SM actine

Les lattices tendus sur anneau de nylon ont été cultivés pendant 5 jours dans des boîtes
20 de Pétri (\varnothing 50 mm). Ils ont été fixés avec du paraformaldéhyde à 3% dans PBS pendant 20 min, puis rincés avec du PBS. Ils ont ensuite été incubés avec PBS + 0.1% Triton X100 pour perméabiliser la membrane aux anticorps, puis avec H_2O_2 3% pour éliminer les peroxydases endogènes. Les liaisons aspécifiques ont été bloquées avec BSA 3% + 10% sérum de mouton dans PBS. Les lattices ont ensuite été incubés,
25 pendant une nuit avec l'anticorps primaire de souris anti- α SM actine dilué au 1/100, puis rincés avec PBS + BSA. L'anticorps secondaire anti-IgG de souris couplé à la peroxydase dilué au 1/150 a été appliqué pendant une heure puis rincé avec PBS + BSA. La révélation de la localisation du marquage a été réalisée avec une solution de DAB qui provoque un noircissement de la peroxydase. Les lattices ont été contre-
30 colorés à l'hématoxyline de Harris pendant 1-2 min. Ils ont été montés entre lame et lamelle, puis ont été observés au microscope optique.

Résultats

1. Mise en évidence de la F actine (Cf. Figure 2)

Les fibroblastes FS, FVr et FVb sont allongés et fusiformes. Leur cytoplasme possède des fibres de stress de F actine.

- 5 Ainsi, en présence du lupéol, les fibroblastes FS, FVr et FVb perdent leurs fibres de stress de F actine et évoluent vers une forme étoilée.

2. Mise en évidence de l' α SM actine (Cf. Figure 3)

- 10 L' α SM actine, révélée par la coloration marron, est présente sous forme granulaire dans le cytoplasme des fibroblastes FVr. Les fibroblastes FS et FVb contiennent peu d' α SM actine sous forme granulaire.

En présence du lupéol, les fibroblastes FS, FVr et FVb montrent un faible marquage de l' α SM actine.

- 15 Ainsi, en présence du lupéol (principe actif LU 113), la répartition cytoplasmique du réseau d'actine n'est pas conservée.

f) Conclusion

En conclusion, il a ici été montré que le lupéol modifiait :

- 20 - les propriétés mécaniques des fibroblastes sains et de vergetures : capacités de rétraction et forces isométriques,
- la morphologie des fibroblastes, avec une absence des fibres de stress.

- 25 Les vergetures apparaissent aux endroits où la peau est soumise à des tensions excessives et en cas de fragilisation du derme, soit de façon constitutionnelle, soit par troubles métaboliques, hormonaux ou autres. Les fibroblastes de vergeture rouge (vergetures récentes et évolutives) ont une capacité contractile importante, à savoir des forces isométriques élevées et un réseau de fibres de stress bien développé.

- 30 Cette étude montre que le lupéol favorise la décontraction cutanée (diminution des forces isométriques et des fibres d'actine), et que son action pourrait donc être bénéfique au sein des vergetures.

Dans les exemples 5 à 10 suivants, les proportions sont données en pourcentage (p/p) et les abréviations QS signifient Quantité Suffisante, QSP signifient Quantité Suffisante Pour.

5

EXEMPLE 5 : Bain de bouche

	Extrait riche en lupéol	0,1 à 10%
	Alcool éthylique	10%
10	Glycérine	10%
	Huile de ricin hydrogénée, Ethoxylée à 40 moles EO (Crémophor co410)	0,5%
	Poly(Methyl vinyl ether/Acide Maléïque (Gantrez S97BF)	0,2%
15	Soude	0,15%
	Fluorure de sodium	0,05%
	Arôme Cannelle-Menthe	0,1%
	Triclosan	0,03%
20	Chlorure de zinc	0,01%
	Saccharine sodique	0,01%
	Colorant C.I. 16255 (E 124)	0,0025%
	Eau purifiée	QSP 100%

EXEMPLE 6 : Pâte dentifrice

	Extrait riche en lupéol	0,1 à 10%
	Monofuorophosphate de sodium	0,75%
5	Fluorure de Sodium	0,10%
	Sorbitol à 70%	35%
	Silice synthétique à fort pouvoir abrasif	13%
	Silice synthétique à faible pouvoir abrasif	5%
	Carboxymethylcellulose sodique	1,6%
10	Lauryl sulfate de sodium	1%
	Arôme mentholé	0,85%
	Oxyde de titane	0,5%
	Lessive de soude	0,5%
	Cyclamate de sodium	0,3%
15	Menthol	0,15%
	Saccharine sodique	0,07%
	Eau purifiée	QSP 100%

EXEMPLE 7 : Crème anti-vergeture

	Eau	QSP 100%
	Acide Lactique	10,0%
	Triéthanolamine	7,5%
5	Cyclométhicone	5,4%
	Ethylhexyle Palmitate	4,5%
	Glycérides de Coco Hydrogénées	3,0%
	Méthylsilanol de Lactate de Sodium	3,0%
	Propylène Glycol	2,5%
10	Néopentanoate Isodécylrique	2,0%
	Protéine Hydrolysée de Soja	2,0%
	Stéarate de Glycérol	1,7%
	Alcool Arachidique	1,6%
	Alcool Cétylique	1,3%
15	Acide Stéarique	1,0%
	Extrait riche en lupéol	0,1 à 10%
	Alcool Béhénylique	0,9%
	Polyacrylamide	0,8%
	Extrait de feuilles de Sophora Japonica	0,5%
20	Glucoside Arachidique	0,4%
	Cire d'abeille	0,4%
	Isoparaïne C13-14	0,4%
	DEA-Phosphate Cétylique	0,3%
	Gluconate de Zinc	0,2%
25	Glycérine	0,1%
	Alcool Cétéarylique	0,1%
	Palmitate Cétylique	0,1%
	Glycérides de Coco	0,1%
	Laureth-7	0,1%
30	Extrait d'Enteromorpha Compressa	0,1%
	Parfum	QS
	Conservateurs	QS

EXEMPLE 8 : Crème anti-vergeture

	Eau	QSP 100%
	Acide Lactique	10,0%
	Triéthanolamine	7,5%
5	Cyclométhicone	5,4%
	Ethylhexyle Palmitate	4,5%
	Glycérides de Coco Hydrogénées	3,0%
	Méthylsilanol de Lactate de Sodium	3,0%
	Propylène Glycol	2,5%
10	Néopentanoate Isodécylrique	2,0%
	Tripeptides de séquence Gly-His-Lys	2,0%
	Stéarate de Glycérol	1,7%
	Alcool Arachidique	1,6%
	Alcool Cétylique	1,3%
15	Acide Stéarique	1,0%
	Extrait riche en lupéol	0,1 à 10%
	Alcool Béhénylique	0,9%
	Polyacrylamide	0,8%
	Extrait de feuilles de Sophora Japonica	0,5%
20	Glucoside Arachidique	0,4%
	Cire d'abeille	0,4%
	Isoparaffine C13-14	0,4%
	DEA-Phosphate Cétylique	0,3%
	Gluconate de Zinc	0,2%
25	Glycérine	0,1%
	Alcool Cétéarylique	0,1%
	Palmitate Cétylique	0,1%
	Glycérides de Coco	0,1%
	Laureth-7	0,1%
30	Extrait d'Enteromorpha Compressa	0,1%
	Parfum	QS
	Conservateurs	QS

EXEMPLE 9 : Crème anti-vergeture

	Eau	QSP 100%
	Acide Lactique	10,0%
	Triéthanolamine	7,5%
5	Cyclométhicone	5,4%
	Ethylhexyle Palmitate	4,5%
	Glycérides de Coco Hydrogénées	3,0%
	Méthylsilanol de Lactate de Sodium	3,0%
	Propylène Glycol	2,5%
10	Néopentanoate Isodécylrique	2,0%
	Protéine Hydrolysée de Soja	1,0%
	Tripeptides de séquence Gly-His-Lys	2,5%
	Stéarate de Glycérol	1,7%
	Alcool Arachidique	1,6%
15	Alcool Cétylique	1,3%
	Acide Stéarique	1,0%
	Extrait riche en lupéol	0,1 à 10%
	Alcool Béhénylique	0,9%
	Polyacrylamide	0,8%
20	Extrait de feuilles de Sophora Japonica	0,5%
	Glucoside Arachidique	0,4%
	Cire d'abeille	0,4%
	Isoparaffine C13-14	0,4%
	DEA-Phosphate Cétylique	0,3%
25	Gluconate de Zinc	0,2%
	Glycérine	0,1%
	Alcool Cétéarylique	0,1%
	Palmitate Cétylique	0,1%
	Glycérides de Coco	0,1%
30	Laureth-7	0,1%
	Extrait d'Enteromorpha Compressa	0,1%
	Parfum	QS

Conservateurs

QS

EXEMPLE 10 : Gel restructurant

5	Eau	QSP 100%
	PEG-6	3,60%
	Butylène glycol	2,70%
	Dextrine	1,86%
10	Triméthicone de Phényl	1,20%
	Extrait riche en lupéol	0,1 à 10%
	crosspolymère Acrylates/ acrylate d'alkyl C10-30	0,60%
	Crosspolymère Diméthicone/ Diméthicone de Phényle vinyle	0,30%
	Extrait de Fleurs de Sophora Japonica	0,20%
15	Gomme Xanthane	0,15%
	PPG 26-Buteth-26	0,11%
	4,5,7-Trihydroxyisoflavone	0,10%
	Protéine de Soja Hydrolysée	0,10%
	Glucose	0,08%
20	Huile de ricin hydrogénée PEG 40	0,07%
	Sorbitol	0,04%
	Extrait de Centella Asiatica	0,04%
	Glycérine	0,04%
	Acide Citrique	0,02%
25	Extrait d'Enteromorpha Compressa	0,02%
	Parfum	QS
	Conservateurs	QS

Revendications

1. Utilisation d'un extrait riche en lupéol pour fabriquer une composition pharmaceutique ou cosmétique, destinée à traiter ou prévenir une
5 dégénérescence des tissus conjonctifs, au niveau du derme et/ou du cartilage, notamment du cartilage articulaire, et/ou du tissu conjonctif gingival, liée à une anomalie de la production de collagène, en particulier du collagène du type I, II, III, IV ou V.
- 10 2. Utilisation selon la revendication 1 pour activer la synthèse des protéines de stress, notamment de l'HSP47.
- 15 3. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la composition pharmaceutique est destinée à traiter et/ou prévenir les pathologies articulaires, telles que l'arthrose, les maladies parodontales, telles que la gingivite ou la parodontite, à traiter les vergetures ou à prévenir leur apparition.
- 20 4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 2 de la composition cosmétique, en tant qu'agent cicatrisant, agent restructurant et agent anti-relâchement de la peau et/ou des muqueuses.
- 25 5. Utilisation selon la revendication 4, caractérisée en ce que la composition cosmétique permet aux tissus conjonctifs de résister au stress sous une contrainte physique telle qu'une prise de poids, une surcharge pondérale, une distension desdits tissus notamment dans le cadre d'une grossesse, une irradiation, notamment aux ultra-violets.
- 30 6. Utilisation selon la revendication 4 ou 5, pour prévenir et/ou retarder le vieillissement cutané, pour prévenir et/ou traiter les vergetures ou leur apparition.

7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 4 à 6, caractérisée en ce que la composition cosmétique est destinée aux femmes enceintes.
- 5 8. Utilisation selon la revendication 4, de la composition en tant que bain de bouche ou pâte dentifrice.
9. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 4 à 8, caractérisée en ce que la composition cosmétique est à application topique.
- 10 10. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 4 à 9, caractérisée en ce que la composition cosmétique comprend entre 0,001 et 10% en poids d'extrait riche en lupéol.
- 15 11. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que l'extrait présente un taux de lupéol supérieur à 30% en poids, de préférence supérieur à 50% en poids.
- 20 12. Utilisation selon la revendication 11, caractérisée en ce que l'extrait présente un taux de lupéol compris entre 70 et 100% en poids.
- 25 13. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le lupéol est obtenu à partir des coques de lupinus albus, de préférence le lupinus albus de variété Arès portant le gène pauper.

1/3

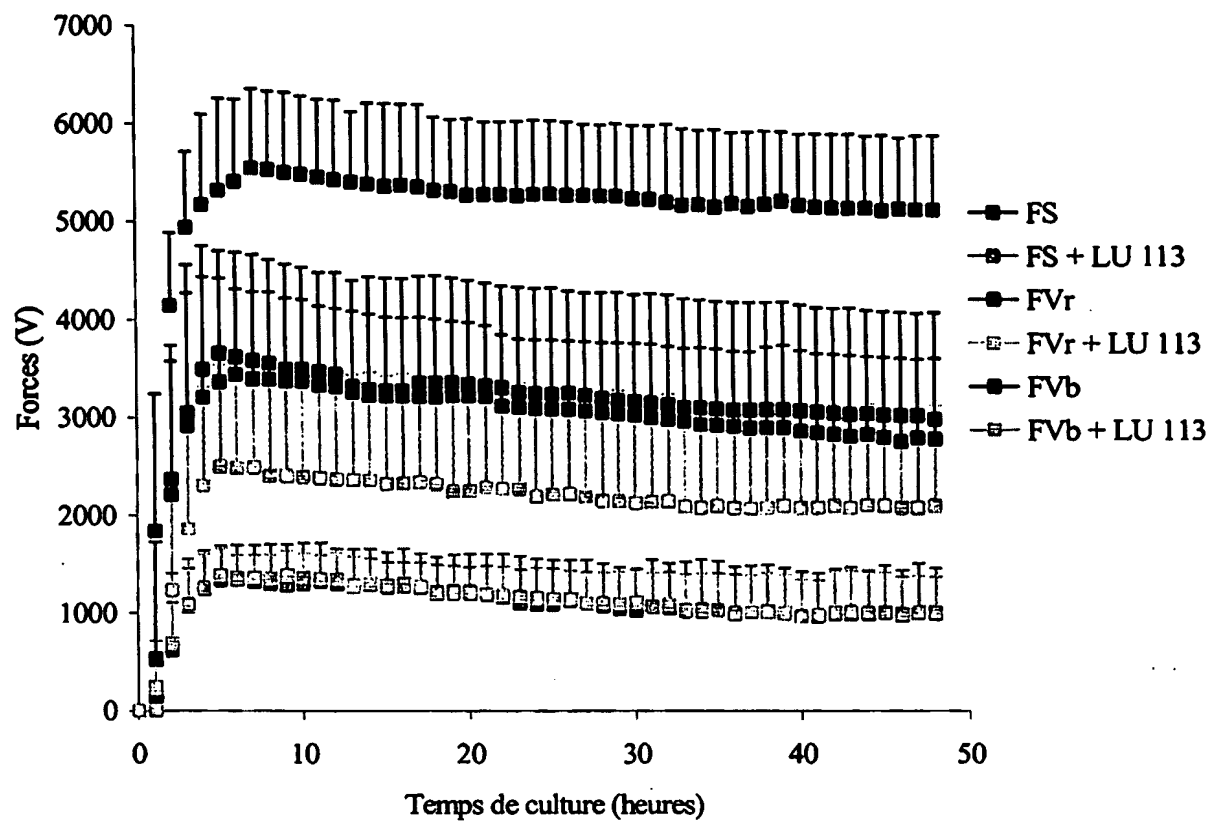


Figure 1

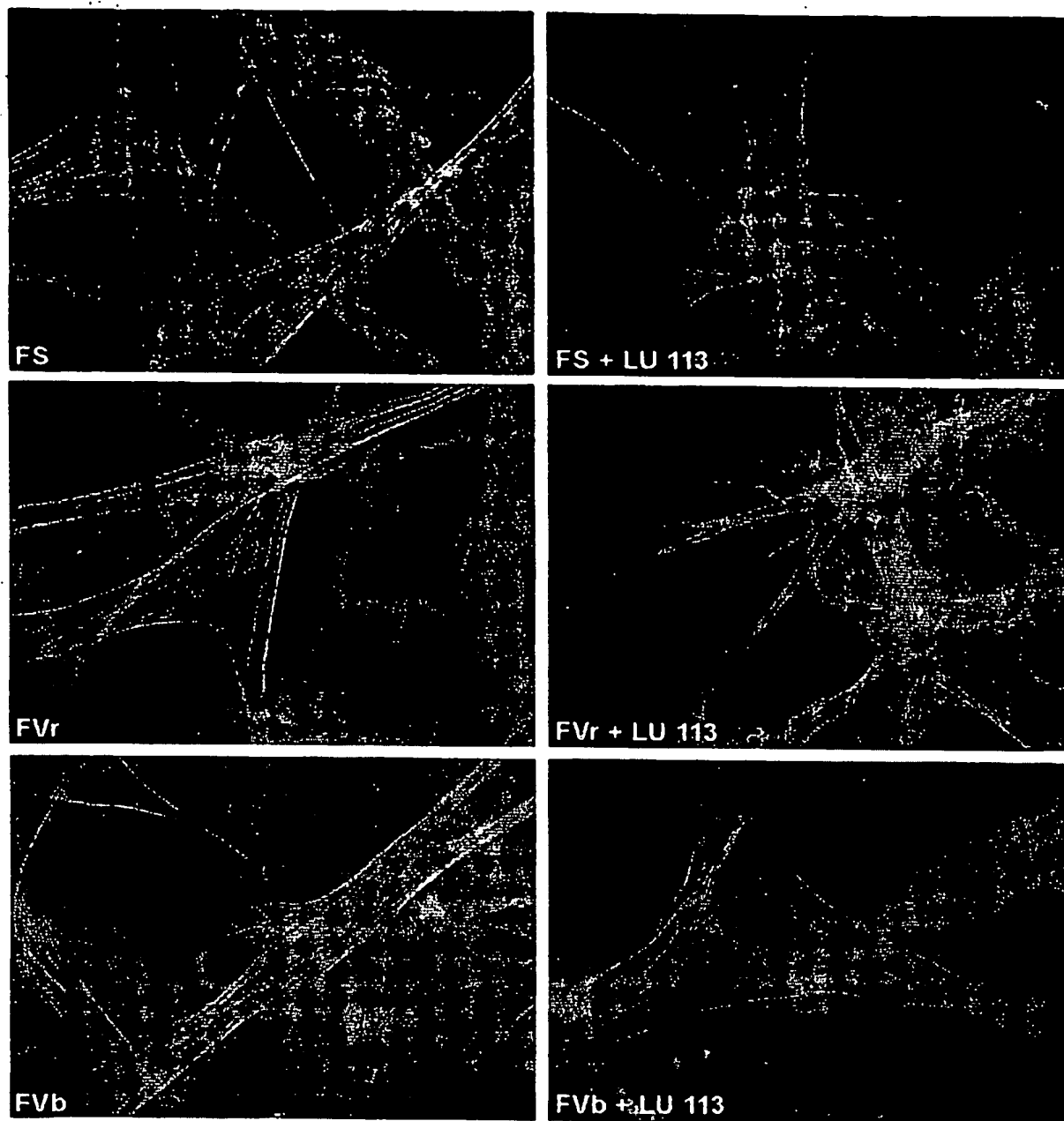


Figure 2

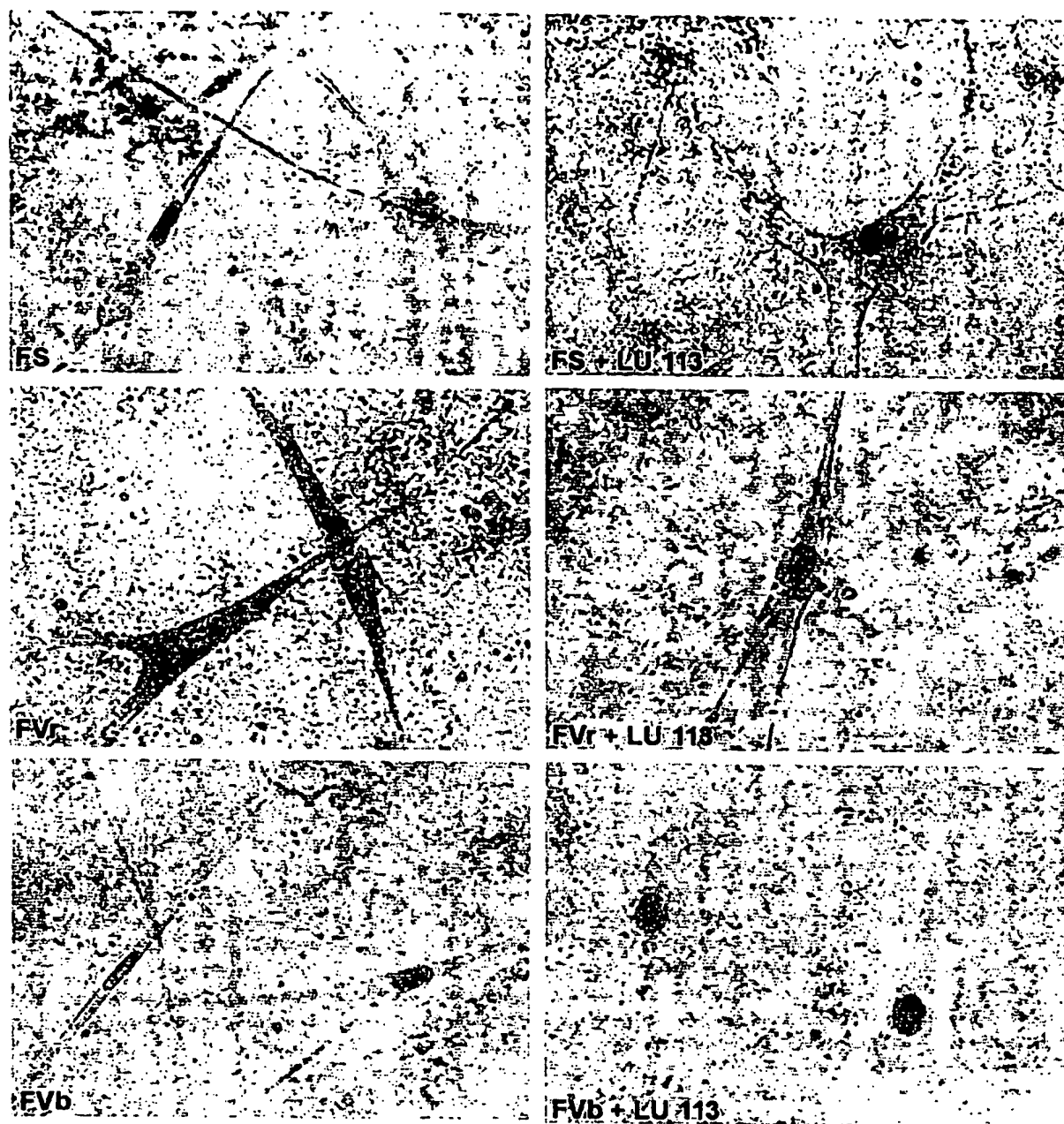


Figure 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR2004/001907

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K35/78 A61K31/56 A61K7/48 A61K7/26 A61P19/02
A61P17/02 A61P1/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, FSTA, EMBASE, PASCAL, CHEM ABS Data, CAB Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GOGLY B ET AL: "Effects of vegetable extract from lupinus albus (Lu105) on the degradation by human leucocyte elastase and bacterial collagenase of gingival collagen and elastic fibers" JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, vol. 119, no. 1, July 2002 (2002-07), page 232, XP002286368 & 63RD ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY FOR INVESTIGATIVE DERMATOLOGY; LOS ANGELES, CALIFORNIA, USA; MAY 15-18, 2002 ISSN: 0022-202X the whole document ----- -/--	1,3-5, 8-13

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

3 February 2005

Date of mailing of the international search report

11/02/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bayrak, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR2004/001907

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SALEEM MOHAMMAD ET AL: "Lupeol, a triterpene, inhibits early responses of tumor promotion induced by benzoyl peroxide in murine skin" PHARMACOLOGICAL RESEARCH, vol. 43, no. 2, February 2001 (2001-02), pages 127-134, XP002286369 ISSN: 1043-6618 the whole document -----	
A	WO 98/47479 A (PHARMASCIENCE LAB ; MSIKA PHILIPPE (FR); RANCUREL ALAIN (FR); MONTAUDO) 29 October 1998 (1998-10-29) the whole document -----	
A	FR 2 778 565 A (LIMOUSINE D APPLIC BIOLOG SILA) 19 November 1999 (1999-11-19) the whole document -----	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR2004/001907

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9847479	A	29-10-1998	FR 2762512 A1	30-10-1998
			AU 7535298 A	13-11-1998
			CA 2258800 A1	29-10-1998
			EP 0914090 A1	12-05-1999
			WO 9847479 A1	29-10-1998
			JP 2000514835 T	07-11-2000
			US 6146616 A	14-11-2000
<hr/>				
FR 2778565	A	19-11-1999	FR 2778565 A1	19-11-1999
			JP 2000026272 A	25-01-2000
<hr/>				

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE		
CIB 7	A61K35/78 A61P17/02	A61K31/56 A61P1/02
A61K7/48	A61K7/26	A61P19/02
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)		
CIB 7 A61K A61P		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)		
EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, FSTA, EMBASE, PASCAL, CHEM ABS Data, CAB Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>GOGLY B ET AL: "Effects of vegetable extract from lupinus albus (Lu105) on the degradation by human leucocyte elastase and bacterial collagenase of gingival collagen and elastic fibers"</p> <p>JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, vol. 119, no. 1, juillet 2002 (2002-07), page 232, XP002286368</p> <p>& 63RD ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY FOR INVESTIGATIVE DERMATOLOGY; LOS ANGELES, CALIFORNIA, USA; MAY 15-18, 2002</p> <p>ISSN: 0022-202X</p> <p>le document en entier</p> <p>-----</p> <p>-/--</p>	1,3-5, 8-13
<input checked="" type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités: <ul style="list-style-type: none"> *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier *&* document qui fait partie de la même famille de brevets 		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
3 février 2005		11/02/2005
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale		Fonctionnaire autorisé
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bayrak, S

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>SALEEM MOHAMMAD ET AL: "Lupeol, a triterpene, inhibits early responses of tumor promotion induced by benzoyl peroxide in murine skin". PHARMACOLOGICAL RESEARCH, vol. 43, no. 2, février 2001 (2001-02), pages 127-134, XP002286369 ISSN: 1043-6618 le document en entier -----</p>	
A	<p>WO 98/47479 A (PHARMASCIENCE LAB ; MSIKA PHILIPPE (FR); RANCUREL ALAIN (FR); MONTAUDO) 29 octobre 1998 (1998-10-29) le document en entier -----</p>	
A	<p>FR 2 778 565 A (LIMOUSINE D APPLIC BIOLOG SILA) 19 novembre 1999 (1999-11-19) le document en entier -----</p>	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Document International No

PCT/FR2004/001907

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9847479	A	29-10-1998	FR 2762512 A1	30-10-1998
			AU 7535298 A	13-11-1998
			CA 2258800 A1	29-10-1998
			EP 0914090 A1	12-05-1999
			WO 9847479 A1	29-10-1998
			JP 2000514835 T	07-11-2000
			US 6146616 A	14-11-2000
<hr/>				
FR 2778565	A	19-11-1999	FR 2778565 A1	19-11-1999
			JP 2000026272 A	25-01-2000
<hr/>				

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.